

## ASTIMLI YETİŞKİN HASTALARDA SERUM LEPTİN, IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-10, NİTRİK OKSİT KONSANTRASYONLARI VE SOLUNUM FONKSİYONLARI ARASINDAKİ İLİŞKİLER

*Mustafa YILMAZ<sup>1</sup>, Mustafa ALTINIŞIK<sup>2</sup>, Mehmet POLATLI<sup>1</sup>, Nimet DEMİRTAŞ<sup>3</sup>, Cengiz GÖKBULUT<sup>5</sup>, Orhan ÇILDAĞ<sup>4</sup>*

### ÖZET

**AMAÇ:** Astım, hava yollarının kronik inflamatuvar hastalığı olarak kabul edilmektedir. Astımda Th1/Th2 lenfositleri arasındaki denge Th2 lenfositleri lehine değişmiştir. Çalışmamızda, astımlı yetişkin hastalarda solunum fonksiyon testleri ile serum leptin, IL-4, IL-10, IFN- $\gamma$  düzeyleri ve plazma nitrik oksit konsantrasyonları arasındaki ilişkiyi incelemeyi amaçladık.

**GEREÇ ve YÖNTEM:** Çalışma kapsamına, klinik olarak astım tanısı alan 32 hasta, hasta grubu olarak; astım ve başka bir akut veya kronik hastalığı olmayan 32 sağlıklı kişi de kontrol grubu olarak alındı. Tüm olgularda solunum fonksiyon testleri spirometre ile ölçüldü. Serum leptin, IL-4, IL-10, IFN- $\gamma$  düzeyleri ELISA yöntemini kullanan ticari kit ile, plazma nitrik oksit konsantrasyonunun göstergesi olarak nitrit+nitrat konsantrasyonları HPLC ile ölçüldü. SPSS 13.0 programında bilgisayara girilen verilerin istatistiksel değerlendirmesi, Student t-test ve Pearson korelasyon testi ile yapıldı.

**BULGULAR:** Kontrol grubunda FEV1 ve FVC ile leptin arasında pozitif korelasyon (sırasıyla  $r=0,443$ ,  $p=0,005$  ve  $r=0,440$ ,  $p=0,013$ ) bulunurken hasta grubunda FEV1 ile leptin arasında negatif korelasyon ( $r=-0,366$ ,  $p=0,043$ ) bulundu. Serum leptin düzeyi kadınlarda erkeklere göre anlamlı olarak yüksek ( $p<0,001$ ) saptandı. Plazma nitrit+nitrat düzeyi hasta grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük ( $p=0,012$ ) bulundu.

**SONUÇ:** Bulgularımız, astımda hava yollarında oluşan inflamasyonun sistemik etkilerinin olabileceğini, bu etkilerin öngörüsünde leptin ve nitrik oksit düzeylerinin yararlı belirteçler olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

**Anahtar sözcükler:** Astım, leptin, nitrik oksit, IL-4, IL-10, IFN- $\gamma$

### The Relationship Between Respiratory Function Tests and Serum Leptin IL-4, IL-10, IFN- $\gamma$ Levels and Plasma Nitric Oxide Concentrations in Asthmatic Adults

### SUMMARY

**PURPOSE:** Asthma is accepted as a chronic inflammatory disease of the airway epithelium. In asthma, balance between Th1/Th2 lymphocytes is changed in favour of the Th2 lymphocytes. In this study, it was aimed to investigate the relationship between respiratory function tests and serum leptin, IL-4, IL-10, IFN- $\gamma$  levels and plasma nitric oxide concentrations.

**MATERIAL and METHODS:** In this study, 32 clinically diagnosed asthma patients were taken as a patient group and 32 healthy individuals as a control group. Respiratory function tests for each case were carried out with spirometer. Serum leptin, IL-4, IL-10, and IFN- $\gamma$  levels were measured with commercial ELISA kits. Plasma nitrite and nitrate levels were detected with HPLC. Data were analysed with, Student t-test and Pearson correlation test by using SPSS 13.0 software.

**RESULTS:** In control group, there was a positive correlation between leptin levels and FEV1 and FVC with the value of  $r=0,443$   $p=0,005$  and  $r=0,440$   $p=0,013$  respectively, whereas in patient group, there was a negative correlation between leptin levels and FEV1 with the value of  $r=-0,366$   $p=0,043$ . Serum leptin levels were significantly higher in women compared to men,  $p<0,001$ . In patient group, plasma nitric oxide levels were significantly lower compared to the control group,  $p=0,012$ .

**CONCLUSION:** These findings suggest that, airway inflammation may have systemic effects in asthma so that leptin and nitric oxide levels might be useful parameters to detect these systemic effects.

**Key words:** Asthma, leptin, nitric oksit, IL-4, IL-10, IFN- $\gamma$

Astım, kısmi geri dönüşümlü havayolu obstrüksiyonu ve bronş aşırı duyarlılığı ile karakterize, çoğu durumda inflamasyonun da eşlik ettiği, tekrarlayıcı karakterde bir havayolu hastalığıdır<sup>1</sup>. Astım patogenezinde bronkospazm, havayolu mukozasında yaygın ödem, mukus sekresyonunda artış, hücrel infiltrasyon ve havayolu epitel hasarı rol oynamaktadır. Astım tanısında en sık kullanılan

parametreler FVC (zorlu bir ekspirium ile akciğerlerden çıkarılan toplam hava miktarı-zorlu vital kapasite), FEV1 (zorlu bir ekspiriumun birinci saniyesinde çıkarılan hava miktarı), FEV1/FVC'dir. Bu parametrelerde tespit edilen patolojik bir düşüklük ilgili hava yollarında obstrüksiyon olduğunu göstermektedir. Leptin, 1994 yılında Zhang ve ark. tarafından keşfedilen<sup>2</sup>, sitokinlere benzeyen, 167

<sup>1</sup>75.Yıl Milas Devlet Hastanesi, Biyokimya Laboratuvarı, MUĞLA, TÜRKİYE

<sup>2</sup>Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, AYDIN, TÜRKİYE

<sup>3</sup>Atatürk Devlet Hastanesi, Göğüs Hastalıkları Kliniği, AYDIN, TÜRKİYE

<sup>4</sup>Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, AYDIN, TÜRKİYE

<sup>5</sup>Adnan Menderes Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, AYDIN, TÜRKİYE

amino asit kalıntısı içeren, 16 kDa molekül ağırlığında, protein yapısında bir hormondur. Leptin, adipoz dokuda sentezlenir, özellikle hipotalamus üzerine reseptörleri (LEPR) aracılığıyla gıda alımını ve enerji metabolizmasını düzenleyerek obezite gelişmesini engeller<sup>3</sup>. Leptin, lenfositler aracılığıyla inflamasyona izin verirken monosit/makrofaj aracılığıyla inflamasyon üzerine inhibitör etki göstererek inflamasyonu düzenler. Leptin, endotelial nitrik oksit (NO $\cdot$ ) üretimini stimüle eder<sup>4</sup>. Nitrik oksit, hava yolu fonksiyonlarının düzenlenmesinde ve inflamatuvar hava yolu hastalıklarının patofizyolojisinde önemli rol oynar<sup>5</sup>. NO $\cdot$  üretiminin ölçüsü olarak sıklıkla plazmada nitrit ve nitrat tayini kullanılır<sup>6</sup>. Leptinin, obez kişilerdeki astımda patolojik rol oynadığı düşünülür, fakat bu konudaki çalışmalar azdır<sup>7</sup>.

Endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) 1980'de keşfedildi ve 1987'de bunun NO $\cdot$  olduğu anlaşıldı<sup>8,9</sup>. Astımlı hastaların ekspirasyon havasında NO $\cdot$ 'in arttığı gösterilmiş ve bu basit ve invaziv olmayan yöntemin astımın değerlendirilmesinde kullanılabileceği gündeme gelmiştir<sup>10</sup>.

İnterlökin-4 (IL-4), CD4+ T lenfositlerinin alt grubu olan Th2 hücreleri, mast hücresi öncülleri tarafından sentezlenen 15-19 kDa molekül ağırlığında glikoprotein yapısında bir sitokindir. Astımda IL-4, müküs gen ekspresyonunu ve mukus salgısını artırarak havayolu obstrüksiyonuna katkıda bulunur<sup>11</sup>.

IL-10, 19 kDa molekül ağırlığında, sitokin sentez inhibitör faktör (CSIF) olarak da bilinen antiinflamatuvar bir sitokindir Normal solunum sisteminde IL-10 düzeyleri yüksektir<sup>12</sup>.

İnterferonlar, virus, bakteri, parazit ve tümör hücreleri gibi yabancı ajanlara karşı organizmanın immün sisteminin ürettiği glikoprotein yapısında doğal proteinlerdir, sitokinler olarak bilinirler. IFN- $\gamma$  proinflamatuvar bir etkiye sahiptir<sup>13</sup>. Bu çalışma, astımlı yetişkin hastalarda serum leptin, IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-10, Nitrik Oksit konsantrasyonları ve solunum fonksiyonları arasındaki ilişkileri araştırmak ve böylece leptinin periferik etkileri hakkında tüm dünyada yaygın olarak sürdürülen çalışmalara ülkemizden de katkıda bulunmak amacıyla hazırlanmıştır.

## **GEREÇ ve YÖNTEM**

Çalışma kapsamına, Adnan Menderes Üniversitesi Hastanesi Göğüs Hastalıkları polikliniğine müracaat eden hastalar alındı. Bu hastalardan klinik olarak bronşial astım tanısı alan fakat akut atak döneminde olmayan ve başka bir kronik hastalığı bulunmayan 16 erkek, 16 kadın olmak üzere toplam 32 kişi "hasta grubu"nu oluşturdu; bronşial astım ve başka akut veya kronik hastalığı bulunmayan ancak nonspesifik yakınmaları olan 16 erkek, 16 kadın olmak üzere toplam 32 kişi "kontrol grubu"nu oluşturdu. Bilgilendirilmiş onam formunu

imzalayan bireyin vücut ağırlığı ile boyu ölçüldükten sonra, spirometre (Minato AutoPal Spirometry, Japan) ile solunum fonksiyon testleri [1 saniyedeki zorlu ekspiratuvar volüm (FEV) ve zorlu vital kapasite (FVC) ölçümü] yapıldı. 10-12 saatlik açlığı takiben sabah saat 08.00-11.00 arasında leptin, IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-10, nitrik oksit (nitrit/nitrat) analizleri için venöz kan alındı. Nitrit/nitrat ölçümü için heparinli tüpe; leptin, IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-10 analizleri için antikoagülsiz tüpe kan alındı. Örnekler alındıktan 30 dakika sonra 4000 g'de 7 dakika santrifüj edildi. Serum ve plazmalar hemen ayrıldı. Analiz gününe kadar Adnan Menderes Üniversitesi Hastanesi Klinik Biyokimya Laboratuvarında -80°C' deki derin dondurucuda saklandı. Kan alınması sırasında hastaların akut atak döneminde olmamasına, aşırı aç veya aşırı tok olmamasına, kadın hastaların menstrüel siklusun ilk yarısında olmasına dikkat edildi. Vücut Kitle indeksi (VKİ), vücut ağırlığı (kg)/boy (m<sup>2</sup>) formülünden hesaplandı.

## **Materyallerin HPLC sistem ile NO $\cdot$ düzeyi tayini için hazırlanması**

Plazmaların çözünmeleri için yaklaşık olarak 2 saat oda ısısında bekletildi. Plazma asetonitril eklenerek deproteinize edildi. Karışım üzerine daha sonra mobil faz (eşit miktarlarda 1,8 mM sodyum karbonat ile 1,7 mM sodyum bikarbonat çözeltileri karışımı) eklendi. Bu şekilde plazma 1/4 oranında (0.25 ml plazma+0.25 ml asetonitril+0.5 ml mobil faz) sulandırılmış oldu. Plazma örnekleri 13000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi.

## **HPLC sistem ile çalışma**

Süpernatant ve standartlardan 200  $\mu$ l alınarak HPLC sistemde çalışıldı. Örnek tepsisinin ilk 5 numune bölgesine sırasıyla 0,05; 0,1; 0,5; 1 ve 10  $\mu$ g/ml'lik çalışma standartları, sonra dört örnek ve bir 1 $\mu$ g/ml'lik çalışma standardı konuldu ve böylece her dört örnekte bir 1  $\mu$ g/ml standart çalışılması sağlanmış oldu. Takip eden örnekler, bir önceki standart pikinin alanı referans alınarak değerlendirildi. Plazmadaki nitrit/nitrat değerini saptamak için, örneğin yaptığı pikin alanının hesaplanmasından sonra, kendisine en yakın olarak çalışılmış 1  $\mu$ g/ml standart pikinin alanı hesaplanmış ve alanlar arasında kurulan doğru orantıyla örneğin konsantrasyonu, sulandırma faktörü olan 4 (tüm örnekler 1/4 dilüe çalışıldığı için) dikkate alınarak hesaplanmıştır. Sonuçlar  $\mu$ g/ml olarak hesaplandıktan sonra  $\mu$ mol/L (Nitrit için çevirme faktörü 23,26 ve nitrat için çevirme faktörü 16,13) olarak ifade edilmiştir.

## **Serum leptin düzeyi tayini**

ELISA yöntemini kullanan ticari kit (dbc-Diagnostics Biochem Canada inc, kat. No. CAN-L-4260) ve bioelisa reader (EL800, biokit) ile ölçüm yapıldı. Serum leptin düzeyi ölçümü için kullanılan ELISA yöntemi, üretici firmanın önerdiği protokol

çerçevesinde, hiçbir modifikasyon yapılmadan uygulandı.

#### Serum interlökin-4 (IL-4) düzeyi tayini

IL-4 düzeyini saptamak için ELISA yöntemini kullanan ticari IL-4 kiti (Immunotech, Bekman Coulter, katalog No. IM1981 Marsilya, Fransa) kullanıldı. IL-4 tayini için uygulanan prosedür, üretici firmanın önerdiği şekilde hiçbir değişiklik yapılmadan uygulandı.

#### Serum interlökin-10 (IL-10) düzeyi tayini

Serum IL-10 düzeyini saptamak için sandviç tip ELISA yöntemini kullanan ticari IL-10 kiti (Immunotech, Bekman Coulter, katalog No. IM1987, Marsilya, Fransa) kullanıldı. IL-10 tayini için uygulanan prosedür, üretici firmanın önerdiği şekilde hiçbir değişiklik yapılmadan uygulandı.

#### Serum interferon- $\gamma$ ? (IFN- $\gamma$ ) düzeyi tayini

Serum IFN- $\gamma$  düzeyini saptamak için ELISA yöntemini kullanan ticari IFN-  $\gamma$  ? kiti (Immunotech, Bekman Coulter, katalog No. IM1743-IM1862, Marsilya, Fransa) kullanıldı. IFN- $\gamma$  tayini için uygulanan prosedür, üretici firmanın önerdiği şekilde hiçbir değişiklik yapılmadan uygulandı.

#### İstatistiksel analiz

Veriler SPSS 13.0 programı yardımıyla değerlendirildi. Ölçüm değerlerinin gruplar arası karşılaştırmalarında parametrik koşullar uygun olduğu için Student t-testi kullanıldı. İncelenen parametreler arasında korelasyon olup olmadığı, veriler normal dağılıma uygun olduğu için Pearson

korelasyon testi ile değerlendirildi.  $p < 0,05$  değerleri anlamlı kabul edildi.

#### BULGULAR

Cinsiyet ayrımı yapmadan gruplar (hasta grubu 32 kişi, kontrol grubu 32 kişi) ayrı ayrı düşünüldüğünde incelenen parametrelere ait veriler Tablo 1'de gösterilmiştir.

Cinsiyet ayrımı yapmadan gruplar (hasta grubu  $n=32$ , kontrol grubu  $n=32$ ) ayrı ayrı düşünülüp incelenen parametrelere ait verilerde ortalama değerler Student t-test ile karşılaştırılmıştır.  $p < 0,05$  değerleri anlamlı kabul edildiğinde FEV1, FVC, FEV1/FVC ve NO $\cdot$  (nitrit+nitrat) ortalama değerleri, beklendiği gibi hasta grubunda anlamlı olarak düşük (sırasıyla  $p < 0,001$ ;  $p < 0,001$ ;  $p < 0,001$ ;  $p = 0,048$ ), leptin değerleri ise hasta grubunda anlamlı olarak yüksek ( $p = 0,034$ ) bulunmuştur. Farklar, Şekil 1 ve 2'de gösterilmiştir.

Grup ayrımı yapmadan erkekler ( $n=32$ ) ve kadınlar ( $n=32$ ) ayrı ayrı düşünüldüğünde incelenen parametrelere ait veriler Tablo 2'da gösterilmiştir.

Grup ayrımı yapmadan erkekler ( $n=32$ ) ve kadınlar ( $n=32$ ) ayrı ayrı düşünülüp incelenen parametrelere ait verilerde ortalama değerler Student t test ile karşılaştırılmıştır.  $p < 0,05$  değerleri anlamlı kabul edildiğinde vücut ağırlığı ve boy ortalama değerleri, kadınlarda anlamlı olarak düşük (sırasıyla  $p = 0,017$ ; ve  $p < 0,001$ ); serum leptin düzeyi ise kadınlarda anlamlı olarak yüksek ( $p < 0,001$ ) bulunmuştur. Erkek ve kadınlara ait serum leptin değerleri arasındaki fark, Şekil 3'de gösterilmiştir. Diğer parametre ortalama değerleri arasında

**Tablo 1.** Hasta ve kontrol grubuna ait incelenen parametre verileri.

Ölçülen Parametre	Hasta grubuna (n=32) ait veriler			Kontrol grubuna (n=32) ait veriler		
	Ortalama Değer	Standart Sapma	Standart Hata	Ortalama Değer	Standart Sapma	Standart Hata
Vücut ağırlığı (kg)	77,84	14,50	2,56	71,63	12,18	2,15
Boy (cm)	164,06	7,78	1,38	166,34	8,46	1,50
Vücut kitle indeksi (kg/m <sup>2</sup> )	29,00	5,15	0,95	25,87	3,97	0,70
FEV1 (%)	76,67	21,38	3,78	110,41	10,67	1,89
FVC (%)	92,72	20,63	3,65	113,66	13,13	2,32
FEV1/FVC (%)	67,66	9,41	1,66	79,75	5,84	1,03
Serum leptin düzeyi (ng/ml)	20,55	18,28	3,23	12,37	10,93	1,96
Serum IFN- $\gamma$ düzeyi (IU/ml)	<0,08			0,08		
Serum IL-4 düzeyi (pg/ml)	<5,00			5,00		
Serum IL-10 düzeyi (pg/ml)	9,27	5,60	1,00	11,80	5,86	1,10
Plazma nitrit+nitrat düzeyi (mmol/l)	40,35	24,62	4,35	53,55	27,70	4,90

istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Cinsiyet ayrımı yapmadan kontrol grubu (n=32) ile hasta grubunda (n=32) incelenen parametreler arasında  $p<0,05$  değerleri anlamlı kabul edilerek Pearson korelasyon testi yapılmıştır. Kontrol grubunda serum leptin düzeyi, vücut kitle indeksi (VKİ) ve FEV1 ile pozitif korelasyon gösterirken (sırasıyla  $r=0,504$  ve  $p=0,003$ ;  $r=0,443$  ve  $p=0,011$ ;  $r=0,443$  ve  $p=0,011$ ), hasta grubunda böyle bir ilişki saptanmamıştır. Hasta grubunda serum leptin düzeyinin FEV1 ile zayıf olarak negatif korelasyon gösterdiği ( $r=-0,383$  ve  $p=0,030$ ) bulunmuştur. Saptanan korelasyonlar Şekil 4 ve 5'de gösterilmiştir.

Erkek hasta (n=16), Erkek kontrol (n=16), kadın hasta (n=16), kadın kontrol (n=16) şeklinde gruplar düşünülüp incelenen parametreler arasında  $p<0,05$  değerleri anlamlı kabul edilerek Pearson korelasyon testi yapıldığında, erkek hasta, erkek kontrol, kadın kontrol gruplarında serum leptin düzeyi ile vücut kitle

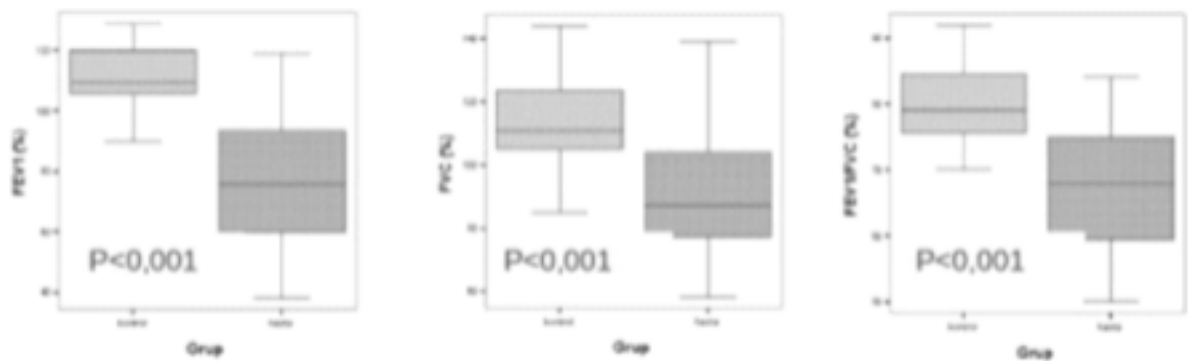
indeksi (VKİ) arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon (sırasıyla  $r=0,703$  ve  $p=0,005$ ;  $r=0,621$  ve  $p=0,010$ ;  $r=0,762$  ve  $p=0,001$ ) gözlenmiştir. Gözlenen korelasyonlar Şekil 6'da gösterilmiştir.

## TARTIŞMA

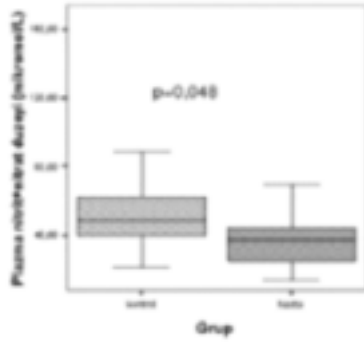
Okul devamsızlığında ve iş gücü kaybında kronik hastalıklar arasında ön sıralarda yer alan astım, tedavi giderleri açısından da, yılda yaklaşık 12,6 milyar dolarlık bir maliyet ile önemli derecede ekonomik yük oluşturan bir hastalıktır. Astımda, Th1 ve Th2 lenfositleri arasındaki denge Th2 yönünde bozulmuştur<sup>14</sup>. Çalışmamızda FVC, FEV1/FVC değerleri kontrol grubunda hasta grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Tablo 1, Şekil 1). Bu, astımdaki hava yolu obstrüksiyonu ile uyumludur. Ancak çalışmamızda VKİ ile havayolu

**Tablo 2.** Çalışmaya alınan erkek ve kadınlara ait incelenen parametre verileri.

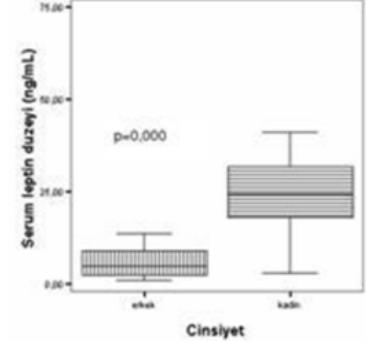
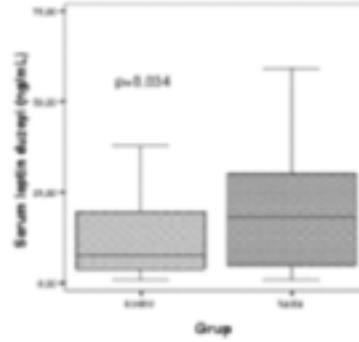
Ölçülen Parametre	Erkeklerle (n=32) ait veriler			Kadınlara (n=32) ait veriler		
	Ortalama Değer	Standart Sapma	Standart Hata	Ortalama Değer	Standart Sapma	Standart Hata
Vücut ağırlığı (kg)	78,5	12,24	2,16	70,72	13,98	2,47
Boy (cm)	169,81	7,17	1,26	160,59	6,35	1,12
Vücut kitle indeksi (kg/m <sup>2</sup> )	27,23	4,50	0,82	27,49	5,12	0,92
FEV1 (%)	96,32	17,30	3,06	90,75	29,04	5,13
FVC (%)	105,47	14,76	2,61	100,91	24,41	4,32
FEV1/FVC (%)	74,34	9,42	1,67	73,06	10,41	1,84
Serum leptin düzeyi (ng/ml)	6,47	6,28	1,11	26,45	15,58	2,75
Serum IFN- $\gamma$ düzeyi (IU/ml)	<0,08			<0,08		
Serum IL-4 düzeyi (pg/ml)	<5,00			<5,00		
Serum IL-10 düzeyi (pg/ml)	11,29	6,69	1,22	9,62	4,72	0,88
Plazma nitrit+nitrat düzeyi (mmol/l)	48,57	33,91	5,99	45,33	17,56	3,11



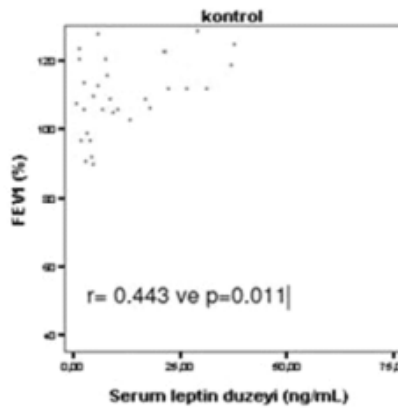
**Şekil 1.** Hasta ve kontrol grubuna ait FEV1 (%), FVC (%) ve FEV1/FVC (%) değerleri



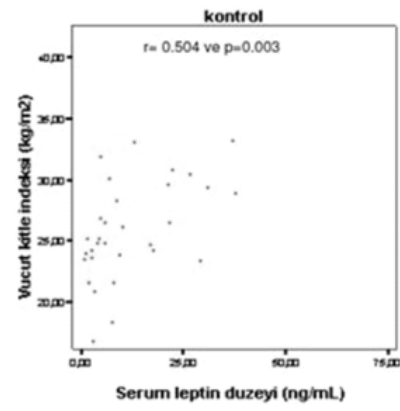
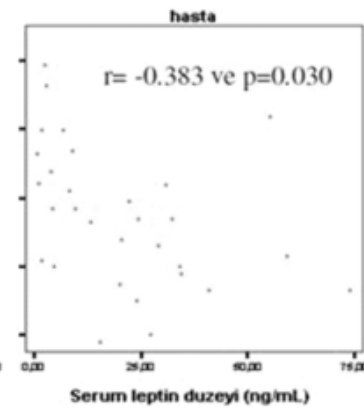
Şekil 2. Hasta ve kontrol grubuna ait plazma nitrit+nitrat ve leptin düzeyleri



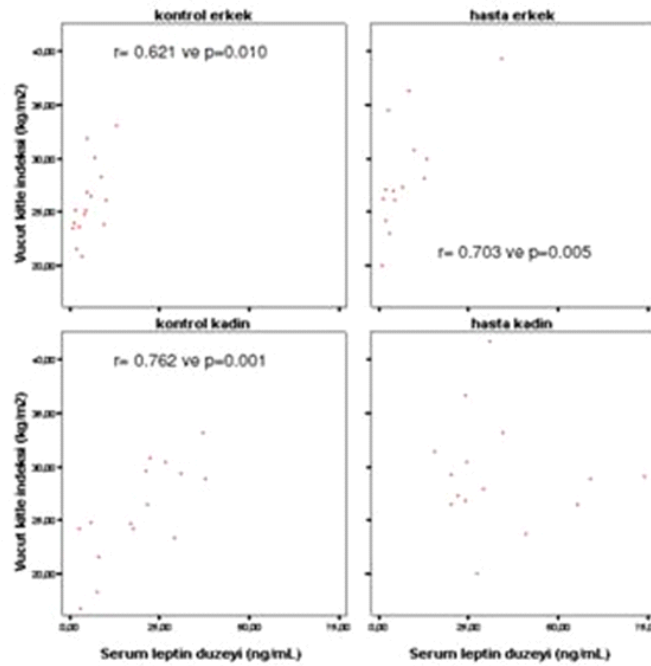
Şekil 3. Erkek ve kadınlara ait serum leptin değerleri



Şekil 4: Kontrol ve hasta grubunda serum leptin düzeyi (ng/ml) ile FEV1 (%) arasındaki korelasyon



Şekil 5. Kontrol grubunda serum leptin düzeyi (ng/ml) ile VKİ (kg/m<sup>2</sup>) arasındaki korelasyon



Şekil 6. Erkek hasta, erkek kontrol, kadın kontrol gruplarında serum leptin düzeyi (ng/ml) ile vücut kitle indeksi (kg/m<sup>2</sup>) arasındaki korelasyon



obstrüksiyonunun göstergesi kabul edilen solunum fonksiyon testleri arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir. Bu sonuçlar, Jarvis ve ark.'nın<sup>15</sup> bulgularını desteklemekle birlikte doğru bir karar için daha fazla çalışmalara ihtiyaç vardır. Obezlerde astımın daha sık görülmesi, obezite ve astım etyolojisinde yer alan fiziksel aktivite azlığına bağlı olabilir<sup>16</sup>. Yağ dokusundan sentezlendiği bilinen leptin, kadınlarda daha çok olmak üzere tüm obez kişilerde artmıştır. Obezite, astım, leptin üçgeni üzerinde yapılan bir çok çalışmada saptandığı gibi, çalışmamızda da, kontrol grubunda serum leptin düzeyi ile FEV1 ve VKİ arasında pozitif korelasyon bulunurken, hasta grubunda ise serum leptin düzeyi ile FEV1 arasında negatif, VKİ ile ise pozitif korelasyon bulundu. Fakat, FEV1 ve FVC ile obezitenin göstergesi olan VKİ arasında her hangi bir ilişki tespit edilememiştir (Şekil 4 ve 5). Farelerde allerjik reaksiyonlar esnasında havayollarındaki leptin düzeyinin arttığı saptanmıştır. Yüksek serum leptin düzeylerinin, havayolları hiperaktivitesi ve yüksek serum IgE seviyeleri ile paralellik gösterdiği belirtilmiştir<sup>17</sup>. Çalışmamızda, leptinin inflamasyon düzenlenmesindeki rolünü<sup>18</sup> destekler anlamda, astımlı hastalarda serum leptin düzeyi, kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Şekil 2). Ayrıca, grup ayırımı yapmadan kadın ve erkekler ayrı ayrı incelendiğinde, serum leptin düzeyleri kadınlarda, erkeklere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (Tablo 2, Şekil 3). Bu durum kadınlarda yağ dokusu fazlalığı ve cilt altı/visseral yağ oranının daha fazla olması ile açıklanabilir. Çalışmamızda serum leptin düzeyinin hasta grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulunması ve leptinin lenfosit aracılı inflamasyonda etkili olduğunun bilinmesi<sup>19</sup>, astımda lenfosit aracılı inflamasyonu desteklemektedir.

Çalışmamızda leptin seviyeleri arttıkça VKİ'nin arttığını tespit ettik. Bu sonuç leptin seviyelerinin VKİ ile ilişkili olduğunu bildiren diğer çalışmalar ile uyumludur<sup>20,21</sup>. Blum ve ark.'nın çalışmasında<sup>22</sup> da astımlı ve sağlıklı çocuklarda serum leptin seviyeleri ölçülmüş ve VKİ ile leptin seviyeleri arasında pozitif korelasyon olduğu bildirilmiştir. Yine 138 çocuğun değerlendirildiği bir çalışmada serum leptin seviyesinin obezlerde normal kilolulara göre anlamlı derecede yüksek olduğu, obez olup astımı mevcut olanlarda serum leptin seviyelerinin obez olup astımı olmayanlara göre 2 kat fazla olduğu belirtilmiştir<sup>23</sup>. Vücut ağırlığı arttıkça leptin üretimi artmaktadır<sup>24</sup>.

Sin ve ark.'nın obez olmayan sağlıklı 2808 olguyu taradıkları çalışmalarında<sup>25</sup> serum leptin seviyeleri ile FEV1 değerleri arasında anlamlı derecede ters ilişki olduğu gösterilmiştir. Bu çalışma bizim sonuçlarımızı destekler niteliktedir. Fakat Güler ve ark.'nın çalışmasında<sup>26</sup>, serum leptin seviyeleri ile spirometrik parametreler arasında korelasyon gözlenmediği bildirilmiştir. Aynı sonuca Kırkıl ve ark.

<sup>27</sup> da ulaşmışlardır.

L-10, hem proinflamatuvar hem de antiinflamatuvar özelliğe sahip bir sitokindir. Proinflamatuvarlar ve Th2 sitokinleri arasındaki denge allerjik astmanın inflamasyon karakterinin belirlenmesinde anahtar rol oynar. Normal solunum sisteminde IL-10 düzeyleri yüksektir<sup>28</sup>. Astımlı olmayan kişilerde yüksek IL-10 düzeyleri, Th2 hücrelerinin rol oynadığı patolojik olayların sınırlandırılmasında önemli rol oynar<sup>29</sup>. Astmatik kişilerin havayollarında IL-10 düzeyleri azalmıştır (Tablo 1). Bu da, potansiyel olarak astım semptomlarının şiddetlenmesine neden olur.

IL-4, Th2 lenfositleri tarafından sentezlenir. Matsumoto ve ark. yaptıkları bir çalışmada, serum IL-4 düzeyinin IgE ile korele olmadığı saptanmıştır<sup>30,31</sup>. Çalışmamızda, tüm olgularda serumda ölçülebilir düzeyde IL-4 tespit edilmedi (Tablo 2). Serum düzeylerinin solunum yollarını doğrudan yansıtmayabileceği muhtemel bir neden olsa da, olgularımızın tedavi altında stabil durumda olmaları ile de açıklanabilir.

IFN- $\gamma$ , Th1 lenfositlerince sentezlenir ve astım patogeneziindeki Th1/Th2 dengesinde etkili olabilir. Astımlı kişilerde serum IFN- $\gamma$  düzeyinin yükseldiğini gösteren çalışmaların yanı sıra, artışın olmadığını gösteren çalışmalar da vardır<sup>32-35</sup>. Ying ve ark. yaptıkları bir çalışmada astımlı hastalardan alınan bronşiyal biyopsi örneklerinde IFN- $\gamma$  için kopyalayan mRNA CD3 ve CD68 pozitif hücrelerin sayısında önemli bir azalma olduğunu göstermişlerdir<sup>36</sup>. Çalışmamızda, serum IFN- $\gamma$  düzeyleri, astmatik ve normal tüm olgularda ölçülebilir düzeyde bulunmadı (Tablo 1 ve 2).

Çalışmamızda plazma NO $\cdot$  (nitrit+nitrat) düzeyi astımlı olgularda kontrol grubuna kıyasla düşük bulunmuştur (Şekil 2). Çalıkoğlu ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada<sup>37</sup> hafif astımlı hastalarda NO göstergesi olarak serum nitrit ve nitrat değerlerin toplamı incelenmiş ve herhangi bir değişiklik olmadığı saptanmıştır. Ekspirasyon havasında NO düzeylerinin arttığını saptayan çalışmalar da vardır<sup>38,39</sup>. Serumda bir takım inflamatuvar belirteçlerin bakılması kolay ve tekrarlanabilir olması nedeniyle tercih edilen bir yol olmakla birlikte, her zaman akciğerde lokalize patolojileri yansıtmada yeterli olmayabilir. Ekshalasyon havasında NO $\cdot$  düzeyinin akciğerden kaynaklanan bir inflamatuvar olayda artması nedeniyle, plazma düzeyinde de bir artış beklenebilir. Ancak plazma NO $\cdot$  düzeyinin yalnız akciğerlerden etkilenmediği, dolaşımdaki vasküler endotelial yapıdan kaynaklandığına ilişkin yayınlar da vardır<sup>40</sup>. Çalışmamızda kontrol grubuna kıyasla hasta grubunda NO $\cdot$  düzeyinin düşük bulunmamasının muhtemel nedeni, zaman zaman astım ataklarına bağlı gelişen hipoksemi ve bu hipokseminin endotelde yaptığı etki sonucu NO $\cdot$  düzeyinin azalmış olması olabilir.

## Sonuç

Çalışmamızda, solunum fonksiyon testlerinin düşük olduğu astım hastalarında serum leptin değerlerinin, kadınlarda daha belirgin olmak üzere arttığı saptanmıştır. Ancak astım hastalarında, Th1 lenfositlerince sentezlenen IFN- $\gamma$ , Th2 lenfositleri tarafından sentezlenen IL-4 ve IL-10'un serum değerlerinde kontrol grubuna göre farklılık saptanmamıştır. Buna göre leptinin, astım patogeneğinde önemli olan Th1 ve Th2 arasındaki denge üzerine etki yapmadığı, başka mekanizmalarla astım hastalığında regülatuar rol oynayabileceği düşünülebilir. Çalışmamızda, astımlı hastalarda plazma NO $\cdot$  düzeyleri anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Buna göre NO $\cdot$ 'nun, astım hastalığının gelişiminde bir rolü olduğu yerine, hastalığın bir sonucu olarak plazma düzeyinin düştüğü düşünülebilir. Sonuç olarak, astımda hava yollarında oluşan inflamasyonun akciğerlerde sınırlı kalmayıp sistemik etkisinin de olabileceği ve hastalığa bağlı diğer sistemik etkilenmelerin öngörüsünde serum leptin ve plazma nitrik oksit düzeylerinin yararlı belirteçler olarak kullanılabileceği söylenebilir.

## KAYNAKLAR

- McDowell KM. Pathophysiology of asthma. *Respir Care Clin N Am* 2000;6(1):15-26.
- Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994;372(6505):425-32.
- Mantzoros CS. The role of leptin in human obesity and disease: A review of current evidence. *Ann Intern Med* 1999;130:671-80.
- Beltowski J, Wojcicka G, Jamroz A. Stimulatory effect of leptin on nitric oxide production is impaired in dietary-induced obesity. *Obes Res* 2003;11(12): 1571-80.
- Barnes PJ. Nitric oxide and airway disease. *Ann Med* 1995;27(3): 389-93.
- Moshage H, Kok B, Huizenga JR, Jansen PL. Nitrite and nitrate determinations in plasma: a critical evaluation. *Clin Chem* 1995;41:892-6.
- Mai XM, Böttcher MF, Leijon I. Leptin and asthma in overweight children at 12 years of age. *Pediatr Allergy Immunol* 2004;15: 523-30.
- Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;373(5789):373-6.
- Palmer RMJ, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987;327(6122):524-6.
- Alving K, Weitzberg E, Lundberg JM. Increased amount of nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. *Eur Respir J* 1993; 6: 268-70.
- Pawankar R, Okuda M, Yssel H, Okumura K, Ra C: Nasal mast cells in perennial allergic rhinitis exhibit increased expression of the Fc epsilon RI, CD40L, IL-4, and IL-13, and can induce IgE synthesis in B cells. *J Clin Invest* 1997; 99:1492-9.
- Borish L, Aarons A, Rumblyrt J, Cvietusa P, Negri J, Wenzel S. Interleukin-10 regulation in normal subjects and patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:1288-96.
- Look DC, Rapp SR, Keller BT, et al. Selective induction of intracellular adhesion molecule-1 by interferon-gamma in human airway epithelial cells. *Am J Physiol* 1992;263:L79-87.
- Buse W, Lemanske R. Immunology of asthma. *NEJM* 2001;344-50.
- Jarvis D, Chinn S, Potts J, Burney P. Association of body mass index with respiratory symptoms and atopy: results from the European Community Respiratory Health Survey. *Clin Exp Allergy* 2002;32:831-7.
- Luder E, Erlich RI, Lou WYW, Melnik TA, Kattan M. Body mass index and the risk of asthma in adults. *Respir Med* 2004;98:29-37.
- Shore SA, Schwartzman IN, Mellema MS, Flynt L, Imrich A, Johnston RA. Effect of leptin on allergic airway responses in mice. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:103-9.
- Loffreda S, Yang SQ, Lin HZ, Karp CL, Brengman ML, Wang DJ, Klein AS, Bulkley GB, Bao C, Noble PW, Lane MD, Diehl AM. Leptin regulates proinflammatory immune responses. *FASEB J* 1998;12:57-65.
- Bruno A, Chiappara G, Merendino AM, Giammanco S, Bellia V, Bonsignore G, et al. Expression of leptin and leptin receptor in bronchial biopsies of COPD and asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:A559.
- MaffeiM, Halaas J, Ravussin E, et al. Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nature Med* 1995;1:1155-61.
- Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, et al. Serum immunoreactive leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996;334:292-5.
- Blum WF, Englaro P, Hanitsch S, et al. Plasma leptin levels in healthy children and adolescents: dependence on body mass index, body fatmass, gender, pubertal stage and testosterone. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2904-10.
- Mai XM, Böttcher MF, Leijon I. Leptin and asthma in overweight children at 12 years of age. *Pediatr Allergy Immunol* 2004;15: 523-30.
- Shimizu H, Shimomura Y, Hayashi R, ve ark. Serum leptin concentration is associated with total body fat mass, but not abdominal fat distribution. *Int J Obes* 1997;21:536-41.
- Sin DD, Man SFP. Impaired lung function and serum leptin in men and women with normal body weight: a population based study. *Thorax* 2003;58:695-8.
- Güler N, Kırerleri E, Ones Ü, et al. Leptin: Does it have any role in childhood asthma? *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:254-9.
- Kırkıl G, Deveci F, Muz MH, İlhan F, Çakır Y. Serum leptin levels in stable asthmatic patients and relation between leptin and severity of asthma, and obesity. *Solunum* 2006;8:27-32.
- Borish L, Aarons A, Rumblyrt J, Cvietusa P, Negri J, Wenzel S. Interleukin-10 regulation in normal subjects and patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:1288-96.
- Moore KW, Malefyt RW. Interleukin-10 and the

- interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol* 2001;19:683-765.
30. Tang ML, Coleman J, Kemp AS. Interleukin-4 and interferon- gamma production in atopic and non-atopic children with asthma. *Clin Exp Allergy* 1995;25:515-21.
  31. Matsumoto T, Miike T, Yamaguchi K, Murakami M, Kawabe T, Yodoi J. Serum levels of soluble IL-2 receptor, IL-4 and IgE-binding factors in childhood allergic diseases. *Clin Exp Immunol* 1991;85:288-92.
  32. Corrigan CJ, Kay AB. CD4 T-lymphocyte activation in acute severe Asthma. Relationship to disease severity and atopic status. *Am Rev Respir Dis* 1990;141:970-7.
  33. Saito H, Hayakawa T, Mita H, Yui YS, Shida T. Augmentation of leukotriene C4 production by gamma interferon in leukocytes challenged with an allergen. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1988;87:286-93.
  34. Hashimoto S, Amemiya E, Tomita Y, et al. Elevation of soluble IL-2 receptor and IL-4, and nonelevation of IFN-gamma in sera from patients with allergic asthma. *Ann Allergy* 1993;71:455-8.
  35. Tang ML, Coleman J, Kemp AS. Interleukin-4 and interferon-gamma production in atopic and non-atopic children with asthma. *Clin Exp Allergy* 1995;25:515-2.
  36. Ying S, Durham SR, Corrigan CJB, Hamid Q, Kay AB. Phenotype of cells expressing mRNA for TH2-type (interleukin 4 and interleukin 5) and TH1-type (interleukin 2 and interferon- $\gamma$ ) cytokines in bronchoalveolar lavage and bronchial biopsies from atopic asthmatic and normal subjects. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995; 12: 477-87.
  37. Çalıkoğlu M, Ünlü A, Ulubaş B, Ercan B, Çimen B, Tamer L, Kanık A. Hafif astımlı hastalarda serum nitrik oksit ve 3-nitrotirozin düzeyleri. *Allerji Astım Dergisi* 2001;3:126-30.
  38. Oğuzülgen İ, Türктаş H, Erbaş D. Stabil astımda ekspirasyon havasındaki nitrik oksit düzeyini etkileyen faktörler. *Türk Toraks Dergisi* 2002;3:232-35.
  39. Yurdakul AS, Canbakan S, Çapan N, Başer Y. Bronşiyal astımlı hastalarda ekspire edilen havadaki nitrik oksit düzeyi. *Solunum Hastalıkları* 2006;17:105-10.
  40. Sanders SP. Nitric oxide in asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999;21:147-9.

#### **YAZIŞMA ADRESİ**

*Uzm. Dr. Mustafa YILMAZ*  
*75.Yıl Milas Devlet Hastanesi, Biyokimya*  
*Laboratuvarı, MUĞLA, TÜRKİYE*

**E-Posta** : myilmazmy@hotmail.com

**Geliş Tarihi** : 12.12.2012

**Kabul Tarihi** : 09.01.2013